STANFORD UNIVERSITY
MAY
8
1938
LANE MEDICAL LIBRARY

Aus dem zahnärztlichen Institut der Universität Heidelberg.

Direktor: Herr Professor Dr. Schmidhuber.

Untersuchungen über die Einwirkung von in der Zahnheilkunde verwendeten Farbstoffen auf Bakterien.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde

Einer Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Vorgelegt von

WERNER DORNER

Zahnarzt

aus Konstanz.

Aus dem zahnärztlichen Institut der Universität Heidelberg.

Direktor: Herr Professor Dr. Schmidhuber.

Untersuchungen über die Einwirkung von in der Zahnheilkunde verwendeten Farbstoffen auf Bakterien.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde

Einer Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Vorgelegt von

WERNER DORNER

Zahnarzt

aus Konstanz.

Gedruckt mit Genehmigung der medizin. Fakultät
der Universität Heidelberg.

Referent: Dozent Dr. Habs.
Dekan: Prof. Dr. C. Schneider.
1936.

Meinen lieben Eltern.

Neben der Verwendung von Silbernitrat, Chlorzink, Chromsäure und Kupfersulfat spielen in der Behandlung entzündlicher Prozesse der Mundschleimhaut vor allem die Farbstoffe eine wichtige Rolle.

Das Bestreben, die organischen Farbstoffe als Therapeutika zu benutzen, reicht schon bis in das Altertum zurück. So wurde schon von den Griechen das Indigo zur Heilung von Geschwüren angewandt. Systematische Untersuchungen über die Wirkungsweise der Farbstoffe konnten aber erst in der neuesten Zeit angestellt werden, nachdem es den enormen Fortschritten der Organischen Chemie gelungen war, Farbstoffe synthetisch herzustellen. Die ersten experimentellen Untersuchungen galten der Beeinflussung der Protozoeninfektionen durch Akridinfarbstoffe. Aber auch die anderen Anilinfarbstoffe erregten bald großes Interesse und man stellte bei einem großen Teil von ihnen die Eigenschaft fest, auch auf die Bakterien und die von ihnen hervorgerufenen Erscheinungen zu wirken.

In meiner Arbeit sollen bakteriologische Untersuchungen derjenigen Farbstoffe durchgeführt werden, die in der Zahn-, Mund- und Kieferklinik in Heidelberg bei der Behandlung von Entzündungen in der Mundhöhle verwendet werden. Es handelt sich um die Farbstoffe Kristallviolett, Kongorot, Karbolfuchsin und Azohel.

Betrachten wir zunächst diese Farbstoffe von der chemischen Seite:

Das Kristallviolett gehört zu den Triphenylmethanen. Es ist ein besonders reines, salzsaures Hexamethyl-para-Rosanilin, welches durch Einwirkung von Phosgen auf Dimethylanilin dargestellt wird.

Das Kongorot ist ein basischer Baumwollfarbstoff und gehört zur Gruppe der Disazofarbstoffe. Es ist ein braunrotes, in Wasser mit gleicher Farbe lösliches Pulver.

Das Karbolfuchsin wird aus basischem Fuchsin, ein Triphenylmethan, und Karbolsäure hergestellt und zwar in folgender Lösung:

Fuchsin	1,0
Alkohol 96%	10,0
Phenol	5,0
Aqu. dest.	ad 100,0

Es ist also ein Kompositionspräparat.

Das von der Firma Hubold & Bartsch, Grünheide in Mecklenburg hergestellte Azohel ist ebenfalls ein Kombinationspräparat, dessen Hauptkomponent ein basischer Azofarbstoff, das 2,4-Diaminoazobenzol ist, und dessen Wirkung durch 15%igen Alkohol wesentlich verstärkt wird.

In der Literatur finden wir als eine wohl der ersten Arbeiten über Anilinfarbstoffe als Desinfektionsmittel im Jahre 1889 die von Beckh, der feststellte, daß Methylviolett in stark verdünnter Lösung die Entwicklung von Staphylokokken und Milzbrandbazillen, also grampositiven Keimen, hemmt.

Schon im Jahre 1890 wurde diese Eigenschaft der Anilinfarbstoffe auf medizinischem Gebiet ausgewertet, indem Stilling Untersuchungen über die Wirkung von Anilinfarbstoffen bei verschiedenen Entzündungen am Auge anstellte. Er empfahl ein von ihm zusammengestelltes Farbstoffgemisch, das Pyoktanin. Da aber die Nachprüfung dieser Ergebnisse damals zum Teil sich stark widersprechende Resultate zeitigte, verschwand dieses Mittel allmählich wieder aus der Augenheilkunde.

Es erschienen jedoch mit der Zeit eine ganze Reihe bakteriologischer Arbeiten, die allerdings zum Teil das Ziel hatten, eine mehr elektive Hemmung bei der Kultur von Bakteriengemengen zu erreichen. Wir können aber trotzdem aus diesen Untersuchungen die Eigenschaften und Einwirkungen der verschiedenen Farbstoffe auf die Bakterien ersehen und daraus die entsprechenden Schlüsse für unsere Fälle ziehen.

Im Jahre 1911 untersuchte S. G. Kriegler eine Reihe von basischen Anilinfarbstoffen, unter anderem auch das Methylgrün und stellte Vergleiche mit der bakteriziden Wirkung der Carbolsäure an. Er kam zu der Feststellung, daß sämtliche von ihm untersuchten Farbstoffe eine weitaus größere Fähigkeit der Bakterienabtötung haben als diese. Außerdem soll in manchen Gruppen der basischen Farbstoffe sich die abtötende Kraft mit Zunahme der Basizität steigern.

Zu letzerem stellte Amster fest, daß ganz allgemein bei den organischen Farbstoffen die sauren in ihrer Wirkung durch saure Reaktion verstärkt wurden, die basischen bei basischer Reaktion.

Eisenberg veröffentlichte dann 1913 eine größere bakteriologische Arbeit über die Wirkung von Farbstoffen auf Bakterien. Auch er kommt auf Grund seiner ausgedehnten wachstumshemmenden und abtötenden Versuche zu dem Schluß, daß ein Teil der Anilinfarbstoffe, insbesondere das Kristallviolett, sehr gut geeignet erscheint zur chemotherapeutischen Beeinflussung von Infektionen, insbesondere solchen, die durch grampositive Erreger hervorgerufen werden. Er stellte fest, daß sowohl die Hemmungswirkung als auch die Abtötung eine streng elektive ist, da die grampositiven Bakterien im allgemeinen drei bis zehntausendmal stärker beeinflußt werden, als gramnegative. Durch ihre Elektivität sind die Farbstoffe unter die halbspezifischen Desinfektionsmittel einzureihen, da die Empfindlichkeitsskala der grampositiven und gramnegativen Bakterien gegenüber anderen Antiseptizis eine ganz regellose, in manchen Fällen sogar eine inverse ist.

Eisenberg und Churchman waren überhaupt die ersten, die einen Zusammenhang der Elektivität mit der Gramfärbung feststellten.

Oesterlin untersuchte 1925 die Wirkungen einer Anzahl Anilinfarbstoffe unter anderem das Kristallviolett auf grampositive (Staphylokokkus pyogenes citreus) und gramnegative Keime (Friedländer, Bacillus coli und andere), und fand, daß schon bei einem Zusatz einer 1%igen wässrigen Kristallviolettlösung eine absolute Hemmung des Wachstums der positiven feststellbar war und bei einem 2- oder 5%igen Agar auch die negativen Bakterien vielfach in ihrem Wachstum gehemmt waren. Dagegen wuchsen auf einem Agar, dem 5% einer gesättigten, wässrigen Säurefuchsinlösung zugesetzt waren, noch alle positiven und negativen Bakterienstämme. Er kommt fernerhin zu dem Ergebnis, daß von sämtlichen von ihm untersuchten Farbstoffen (Gentianaviolett, Säurefuchsin, Kristallviolett, Malachitgrün, Anilinviolett und Safranin) das Säurefuchsin die geringste Sterilisationskraft hat.

Eine ausführliche und zusammenfassende bakteriologische Arbeit brachte dann 1928 Sartorius heraus. Er untersuchte etwa 200 Farbstoffe auf ihre Einwirkung auf folgende Bakterienarten: Von den gramnegativen die Colibakterien, Typhusbakterien, Paratyphus-A, Paratyphus-B, Ruhr- und Cholerabakterien; von den gramfesten die Staphylococcen und die Heubazillen. Eine besonders starke, nicht nur hemmende sondern auch abtötende Kraft, wurde hierbei unter anderen vom Kristallviolett festgestellt. Bei Abtötungsversuchen in 0,1%iger Lösung wurde folgendes festgestellt: bei Einsaat von 3 Tropfen dichter Coli- respektive Staphylococcenaufschwemmung trat eine Abtötung durch das Kristallviolett von Colibakterien innerhalb 10 Stunden, von Staphylokokken innerhalb 11 Stunden ein. Es hat also nicht nur auf die grampositiven sondern auch auf die gramnegativen Keime sehr starke Einwirkung. Ferner kam Sartorius zu dem Ergebnis, daß die meisten wirksamen Farbstoffe, die eine Abtötung bewirkten, der Triphenylmethanreihe angehörten.

Eine weitere bakteriologische Arbeit stammt von Lockemann im Jahre 1934, in der er besonders die bakterizide Wirkung des Azohels untersuchte. Er stellte eine außerordentlich gute Wirkung des Azohels fest, die hauptsächlich auf einer Kombinationswirkung des Farbstoffes 2,4-Diaminoazobenzol mit Alkohol beruht.

Wenden wir uns nun wieder den klinischen Untersuchungen zu:

Bekannt und in dauerndem Gebrauch sind ja schon seit langem die Acridinfarbstoffe, deren bekannteste Vertreter das Trypaflavin und das Rivanol sind. Diese Farbstoffe sind schon so häufig beschrieben und untersucht worden, daß ich nicht näher darauf eingehen möchte.

Aber auch andere Farbstoffgruppen spielen in der Medizin eine große Rolle.

So untersuchte Gebb 1913 60 sowohl saure als auch basische Farbstoffe und fand davon 36, darunter auch das Kristallviolett, die eine stark abtötende Wirkung auf den Diplobazillus Morax-Axenfeld und auf die Staphylokokken haben. Gleichzeitig untersuchte er noch die Reizwirkung auf die Schleimhäute und fand, daß die basischen Farbstoffe sich durch besonders gute Verträglichkeit auszeichnen. Auch der Versuch am Patienten bestätigte vollauf die gute therapeutische Verwendbarkeit von Farbstoffen in der Augenheilkunde, besonders bei Entzündungen, die durch den Diplokokkus und durch den Staphylokokkus pyogenes albus hervorgerufen wurden.

Bald fanden die Anilinfarbstoffe als Chemotherapeutika auch auf anderen Gebieten der Medizin starke Beachtung. So empfiehlt Dounelly bei Ulcera cruris, Verbrennungen, infizierten Wunden basisches Fuchsin, das er in einer Salbe 1%ig verordnete.

J. Ruhrah behandelte Streptokokkeninfektionen des Rachens mit Applikationen einer 4%igen Lösung von Dahliaviolett oder Mundspülungen mit 1%iger Lösung. Es soll absolut reiz- und schmerzlos sein, und auch bei Hautaffektionen und Furunkulose gute Dienste leisten.

Während des Krieges wurden die Anilinfarbstoffe, von den Engländern hauptsächlich, zur Wundtheraphie von Schußverletzungen sehr viel verwendet.

A. Leitch unterzog das Brillantgrün einer eingehenden Untersuchung. Hierbei erwies sich, daß Brillantgrün schon in Lösungen von 1:5000000 gegenüber Staphylokokken als bakterizid, während Quecksilberchlorid erst in einer Konzentration von 1:250000 dieselbe Wirkung zeigte. Das Wachstum der Streptokokken wird von Brillantgrünlösungen 1:500000 gehemmt, von Sublimatlösungen sind zur Erzielung des gleichen Effektes Lösungen 1:50000 erforderlich. Für Colibazillen benötigt man etwas stärkere Lösungen. Jedoch ist das Verhältnis Brillantgrün-Sublimat das gleiche. Zur Wundbehandlung nahm Leitch eine Lösung 1:1000 in destilliertem Wasser, und erzielte damit sehr gute Erfolge. Für ein ähnlich gutes Antiseptikum hält er das Kristallviolett.

Zur Behandlung nässender, ekzematöser Dermatitiden sowie bei der in den Tropen sehr häufig vorkommenden Epidermophytie der Zehen, der sog. Mangozehe, benutzte Castellani mit gutem Erfolg Karbolfuchsin. Insbesondere bewährte es sich bei solchen Dermatitiden, bei denen Salbenbehandlung kontraindiziert ist.

Auch das Methylenblau ist ein sehr häufig angewandtes Desinfektionsmittel bei eiternden Dermatosen, Verbrennungen und infizierten Wunden.

Über das Azohel sind ebenfalls schon mehrfach Veröffentlichungen über klinische Erfolge besondes bei Grippe und Diphterie, sowie in der Zahnheilkunde bei Gingivitiden und Stomatitiden gemacht worden. Besonders hervorgehoben wird die große Tiefenwirkung und sein Diffusionsvermögen. Auch bei Masern und Scharlach habe es gute Erfolge gezeigt.

Über die desinfizierende Wirkung des Kongorots ist dagegen in der Literatur bis jetzt noch nichts zu finden. Es hat jedoch schon anderweitig Eingang in die Medizin gefunden. Es wird einmal zur Leberfunktionsprüfung sowie zur Feststellung von Amyloidose benützt. Außerdem empfiehlt es Becker zur intravinösen Injektion als 1%ige wässrige Lösung. Er brachte damit frische Blutungen fast augenblicklich zum Stehen, und auch noch in den nächsten 4—6 Stunden ließ sich eine Verkürzung der Gerinnungszeit nachweisen, auch wenn diese vor der Injektion normal gewesen war.

Auch F. Szirmai empfiehlt das Kongorot als Hämostyptikum, besonders bei typhösen Darmblutungen. Er wendet es als intravenöse oder submuköse Injektion an.

Die Wirkung des Kongorots wird auf eine Vermehrung der Blutblättchen und eine Abkürzung der Gerinnungszeit, also auf eine Funktionssteigerung des reticulo-endothelialen Systems zurückgeführt.

Auch in der zahnärztlichen Literatur finden wir öfters Farbstoffe empfohlen. Besonders für die Therapie der Plaut Vincent'schen Stomatitis werden eine größere Anzahl von Farbstoffen benützt. Da es sich hierbei speziell um eine Oberflächeninfektion durch Spirochaeten und fusiforme Bacillen handelt, also eine rein bakterielle Ursache hat, ist diese natürlich besonders zur Behandlung durch Anilinfarbstoffe geeignet.

So pinselt Widels die geschwürigen Flächen ein bis zwei mal pro Tag mit 10%igem Pyoctanin, während Weißenfels Karbolfuchsin empfiehlt und Moore sie zwei mal täglich mit 1%ger Lösung von Acriviolett behandelt. Auch bei Pneumokokkeninfektionen und sonstigen Stomatitiden empfiehlt letzterer das Acriviolett. Ein ebenfalls häufig angewandtes Medikament ist das 1%ige Brillantgrün in 40%igem Alkohol gelöst.

Auch Seifert machte schon im Jahre 1910 Versuche mit Methylenblau, Scharlachrot, Trypanrot, Malachitgrün, Methylviolett und Eosin. Das Scharlachrot fand er als sehr gut geeignet zur Behandlung des Soor und der Stomatitis mercurialis in einer 5 bis 8%igen Salbe; weniger gut bewährte es sich bei syphilitischen Geschwüren. Tuberkulöse Geschwüre reagierten gut auf Methylenblau, das er auch zur Behandlung der Alveolarpyorhoe empfiehlt.

Schroeder berichtet ebenfalls, daß Dosen von Methylenblau als Antineuralgicum nach Zahnextraktionen von gutem Erfolg seien.

Bakteriologische Untersuchungen.

Da über die bakterizide Kraft des Kongorots bisher noch nichts bekannt ist, und uns daher jeglicher Anhaltspunkt fehlt, bei welcher Konzentration die desinfizierende Wirkung beginnt, wurden zunächst Hemmungsversuche angesetzt. Als Bacterium wurden von den grampositiven der Staphylococcus albus, von den gramnegativen der Bacterium coli verwendet. Sämtliche Versuche wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Kongorot wurde einer Bouillon zugesetzt in folgenden Verdünnungen: 1:1000, 1:5000, 1:10000, 1:50000, 1:100000, 1:500000, 1:1000000. Diese Konzentrationen wurden jeweils mit zwei Ösen einer Bouillon eines Staphylococcenstammes bzw. eines Colistammes geimpft. Zur Kontrolle wurden zwei Reagenzgläser mit reiner Bouillon beimpft. Die beimpften Röhrchen wurden bei 37° bebrütet.

Bacterium coli.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
1: 1000	+			
1: 5000	+			
1: 10000	+			
1: 50000	+			
1: 100000	+			
1: 500000	+			
1:1000000	+			

(+ = Wachstum.)

Da schon am ersten Tage keinerlei Hemmung des Bacterium coli in diesen Konzentrationen eintrat, wurde der Versuch abgesetzt.

Staphylokokken.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1: 1000	—	—	?	?	?	?	+
1: 5000	?	+	+	+	+	+	+
1: 10000	+	+	+	+	+	+	+
1: 50000	+	+	+	+	+	+	+
1: 100000	+	+	+	+	+	+	+
1: 500000	+	+	+	+	+	+	+
1:1000000	+	+	+	+	+	+	+

Wir ersehen also aus den Tabellen, daß Bacterium coli überhaupt nicht bei diesen Konzentrationen gehemmt wurde.

Bei den Staphylokokken dagegen scheint die Grenze der Hemmungsfähigkeit bei der Konzentration 1 : 1000 zu liegen. Wir hatten an den ersten beiden Ablesungstagen, also nach 24 bzw. 48 stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei dieser Konzentration keinerlei Wachstum. Bei 1 : 5000 war es am ersten Tage zweifelhaft, vom zweiten Tag an jedoch deutliches Wachstum wahrnehmbar. Vom dritten Ablesungstag an war es auch bei 1 : 1000 fraglich, und am siebten Tag trat auch bei dieser Konzentration Wachstum ein.

Da diese Konzentrationen beim Bacterium coli keinerlei Ergebnisse zeitigten, wurde derselbe Versuch mit größeren Konzentrationen angesetzt. Und zwar 1 : 100, 1 : 200, 1 : 300, 1 : 500, 1 : 650 und 1 : 1000.

Bacterium coli.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1 : 100	+						
1 : 200	+						
1 : 300	+						
1 : 500	+						
1 : 650	+						
1 : 1000	+						

Auch diese Konzentrationen brachten keinerlei Hemmung, weshalb der Versuch abgesetzt wurde.

Staphylokokken.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1 : 100	—	—	—				
1 : 200	—	—	—				
1 : 300	—	—	—				
1 : 500	—	—	—				
1 : 650	—	—	—				
1 : 1000	—	—	?				
1 : 2000	?	+	+				

Da am vierten Tag eine Verunreinigung der Versuchsreihe eintrat, mußte der Versuch abgebrochen werden. Wir können jedoch trotzdem hieraus ersehen, daß die Hemmungswirkung des Kongorots bei Staphylokokken ungefähr bei der Konzentration 1 : 1000 beginnt.

Für den nächsten Versuch wurde eine alkoholische Lösung von Kongorot hergestellt. Und zwar 1 : 100 mit 96 %igem Alkohol. Hieraus wurden wieder Bouillonverdünnungen angefertigt. Zur Kontrolle wurde der Hemmungsversuch in den selben Konzentrationen mit 96 %igem Alkohol allein angesetzt. Dieser Versuch wurde nur mit Staphylokokken ausgeführt.

Kongorot.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1: 100	—	—	—	—	—	—	—
1: 200	—	—	—	—	—	—	—
1: 300	—	—	—	—	—	—	—
1: 500	—	?	Farbniederschlag	—	—	—	—
1: 650	—	?	„	—	—	—	—
1:1000	—	—	—	?	?	+	+
1:2000	+	+	+	+	+	+	+

Alkohol.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1: 100	—	—	—	—	—	—	—
1: 200	—	+	+	+	+	+	+
1: 300	—	+	+	+	+	+	+
1: 500	+	+	+	+	+	+	+
1: 650	+	+	+	+	+	+	+
1:1000	+	+	+	+	+	+	+
1:2000	+	+	+	+	+	+	+

Aus der Tabelle des Kongorots ist ersichtlich, daß die Hemmungswirkung auch durch den Zusatz von Alkohol nicht erhöht wird. Andererseits ersehen wir jedoch, daß das Kongorot eine bedeutend größere bakterizide Kraft als der Alkohol besitzt. Die Trübung des Kongorots bei den Konzentrationen 1:500 und 1:650 wurde durch mikroskopisches Präparat als Farbniederschlag und nicht von den Bakterien ausgehend festgestellt.

Um einen Vergleich mit anderen Farbstoffen zu haben, wurde ein Hemmungsversuch mit Kristallviolett angesetzt.

Staphylokokken.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1: 1000	—	—	—	—	—	—	—
1: 5000	—	—	—	—	—	—	—
1: 10000	—	—	—	—	—	—	—
1: 50000	—	—	—	—	—	—	—
1: 100000	—	—	—	—	—	—	—
1: 500000	—	—	—	—	—	—	—
1:1000000	—	—	—	—	—	—	—
1:5000000	—	—	—	—	+	+	+

Wir haben also beim Kristallviolett schon eine bakterizide Wirkung bei einer Konzentration von 1:5000000. Erst am fünften Tag trat bei dieser hohen Verdünnung ein Wachstum ein.

Bacterium coli.

Konzentration	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
1: 1000	—	—	—	—	—	—	—
1: 5000	—	—	—	—	—	—	—
1: 10000	—	—	—	—	—	—	—
1: 50000	—	—	—	—	—	?	?
1: 100000	+	+	+	+	+	+	+
1: 500000	+	+	+	+	+	+	+
1: 1000000	+	+	+	+	+	+	+
1: 5000000	+	+	+	+	+	+	+

Gegenüber dem Bacterium coli tritt deutlich die Elektivität der Farbstoffe hervor. Erst bei einer Konzentration von 1:50000 übte das Kristallviolett eine bakterizide Wirkung aus. Das gramnegative Coli benötigt also eine ca. 100 mal stärkere Konzentration als der grampositive Staphylokokkus.

Abtötungsversuche.

Nach diesen Vorversuchen gingen wir zu den Abtötungsversuchen über. Es wurde zunächst die Suspensionsmethode angewandt. Diese besteht darin, daß 1 ccm einer wässerigen Bakterienaufschwemmung mit 1 ccm einer Farbstofflösung zusammengebracht wird.

Die Versuche fanden bei Zimmertemperatur (20° C) statt.

Aus dem Gemisch wurde dann in verschiedenen Zeitabständen eine Öse in Bouillon übertragen und sieben Tage lang bei 37° C bebrütet.

Mit dem ersten Versuch wurde das Kongorot auf seine abtötende Kraft geprüft; es wurde eine 1%ige wässrige Kongorotlösung verwandt.

Abtötung nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Staphylokokken	+	+	+	+	+	+	+	+
Bact. coli	+	+	+	+	+	+	+	+

(+ = Wachstum)

Es ergab sich also, daß das Kongorot innerhalb eines Zeitraumes von zwei Stunden weder auf die Staphylokokken noch auf die Colibazillen eine bakterizide Kraft ausübt. Zu bedenken ist allerdings, daß die Konzentration des Farbstoffes um die Hälfte heruntergesetzt wird, da ja dieser mit der selben Menge einer Bakterienaufschwemmung zusammengebracht wird. Wegen der schlechten Löslichkeit des Kongorots ist ein Versuch mit einer stärkeren Konzentration als 1% unmöglich.

Um einen Vergleich mit dem Kongorot zu bekommen, wurde das Kristallviolett zunächst auch nur 1%ig geprüft. Es ergab sich folgendes Resultat:

Abtötung nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Staphylokokken	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. coli	+	+	+	+	+	+	—	—

Die Staphylokokken werden also schon nach einer Minute abgetötet, die Colibacterien erst nach einer Stunde.

Die nächste Versuchsreihe wurde mit 3%igem Kristallviolett angesetzt, da es in dieser Konzentration in unserer Klinik zur Verwendung kommt.

Abtötung nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min
Staphylokokken	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. coli	+	+	+	+	+	—	—	—

Wir haben beim 3%igen Kristallviolett eine Abtötung der Colibakterie schon nach 30 Minuten. Das Wachstum der 7,5 und 15 Minutenreihe trat erst am 3. Ablesungstag ein. Wir haben also hier eine Hemmungswirkung. Da außerdem nur durch die eine Öse des Gemisches Kristallviolett-Bakterienaufschwemmung eine starke Färbung der Bouillon eintrat und die starke Entwicklungshemmung aus den Vorversuchen bekannt ist, wurde eine Kontrollmischung gemacht, indem eine Öse Farbstoff und eine Öse Bakterienaufschwemmung 10 ccm Bouillon zugesetzt wurde. Tatsächlich ergab dann auch diese Kontrolle, daß Staphylokokken gehemmt wurden, die Coli dagegen nicht. Außerdem wurde festgestellt, daß sowohl das 1%ige als auch das 3%ige Kristallviolett eine Ausflockung der Staphylokokken hervorrief. Der Bakterizidieversuch mit Kristallviolett ist also nach der Suspensionsmethode nicht zu verwerten.

Ein Versuch mit Karbolfuchsin ergab völlige Abtötung sowohl der Staphylokokken als auch der Coli schon nach einer Minute.

Das Azohel dagegen ergab folgenden Befund:

Abtötung nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.
Staphylokokken	+	+	+	+	—	—	—	—
Bact. coli	+	+	+	+	+	+	—	—

Auch bei diesem Versuch konnte diese Methode nicht voll befriedigen, da das Wachstum der Staphylokokken in der 7,5 Minuten-Reihe erst am 3. Kontrolltag, das der Coli in der 30 Minuten-Reihe erst am 5. Kontrolltag eintrat. Wir haben also auch hier wieder Wachstumshemmungen, bei denen das der Bouillon zugesetzte Farbstoffgemisch eine Rolle spielen kann. Ein weiterer Nachteil der Suspensionsmethode ist der, daß die Konzentrationen der Farbstoffe durch den Zusatz eines gleichen Teiles einer Bakterienaufschwemmung um die Hälfte heruntergesetzt werden. Um nun noch ein genaueres Resultat zu erhalten, griffen wir zur

Keimträgermethode,

und zwar zur Objektträgermethode nach Jensen. Er wurde folgendermaßen ausgeführt:

Auf eine 24stündige Kultur von Staphylokokken und Coli auf Schrägagar wurde sterile physiol. Kochsalzlösung gegossen und diese Aufschwemmung nach tüchtigem Umschütteln durch einen Trichter mit Glaswatte abfiltriert. In zwei sterile Petrischalen wurden je eine Anzahl sterile Deckgläschen gebracht, und jedes mit einer Öse Staphylokokken- bezw. Coliaufschwemmung beschickt. Diese Schalen wurden nun zum Trocknen eine halbe Stunde offen in den Brutschrank gebracht. Dann wurde die Farbstofflösung in diese Schalen gegossen und die Deckgläschen nach verschiedenen Zeiträumen den Petrischalen entnommen, in sterilem Aqua destillata von der überschüssigen Farbe befreit und in Bouillon gebracht. Wir haben also bei dieser Methode die Fehlerquellen der Suspensionsmethode ausgeschaltet.

Auch hier wurde wieder zuerst das 1%ige Kongorot geprüft und zwar dieses Mal in größeren Zeitabständen, da ja die bisherigen Abtötungsversuche keinerlei Ergebnis zeitigten.

Abgetötet nach	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	180 Min.
Staphylokokken	+	+	+	+	+	—
Bact. coli	+	+	+	+	+	+

Abgetötet nach	3 Std.	4 Std.	5 Std.	6 Std.	7 Std.	24 Std.
Staphylokokken	+	+	+	+	+	+
Bact. coli	+	+	+	—	+	+

Selbst nach 24stündiger Einwirkung des Farbstoffes auf die Keime trat keinerlei Abtötung ein.

Ein Versuch mit den um so vieles empfindlicheren Streptokokken verlief ebenfalls ergebnislos.

Wir sehen also, daß das Kongorot in dieser Konzentration als Desinfiziens unbrauchbar ist.

Der nächste Versuch wurde mit 3%igem Kristallviolett angesetzt:

Abgetötet nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Staphylokokken	—	—	—	—	—	—	—
Bact. coli	+	+	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—	—

Auch hier kommt wieder die überragende bakterizide Kraft des Farbstoffes gegenüber den grampositiven Bakterien — es wurden dieses Mal auch die Streptokokken dazu genommen — zum Ausdruck; andererseits ist auch der Erfolg bei den gramnegativen Keimen ein recht guter, denn das Wachstum in der 1 Minuten-Reihe trat erst am zweiten, das der 2,5 Minuten-Reihe am dritten Tag ein. Wir haben also eine Abtötung nach 5 Minuten Einwirkungszeit und nach einer Minute bezw. 2,5 Minuten eine 24stündige und 48stündige Hemmung.

Auch das Azohel zeigte eine gute bakterizide Wirkung:

Abgetötet nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Staphylokokken	+	—	—	—	—	—	—
Bact. coli	+	—	—	—	—	—	—
Streptokokken	—	—	—	—	—	—	—

Staphylokokken und Colibakterien werden also gleichmäßig nach 2,5 Minuten abgetötet, während bei den Streptokokken schon nach einer Minute kein Wachstum mehr vorhanden war.

Das Carbolfuchsin tötete schon nach einer Minute alle drei untersuchten Bakterienarten ab. Da aber die Vermutung nahe lag, daß diese Wirkung in der Hauptsache durch das 5%ige Phenol hervorgerufen wird, wurde das Fuchsin getrennt untersucht. Es wurde das 1%ige basische Fuchsin, in 10%igen Alkohol gelöst, verwandt.

Abgetötet nach	1 Min.	2,5 Min.	5 Min.	7,5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min
Staphylokokken	+	+	+	+	+	+	—	—
Bact. coli	+	+	+	+	+	+	+	+
Streptokokken	+	+	—	—	—	—	—	—

Eine Abtötung der Staphylokokken trat erst nach einer Stunde ein, während keinerlei Hemmung bei den Colibakterien festzustellen war. Die Streptokokken zeigten schon nach 5 Minuten kein Wachstum mehr. Wir ersehen also, daß tatsächlich die Carbolsäure der Hauptfaktor der bakteriziden Wirkung des Carbolfuchsins ist. Ein vergleichshalber angestellter Versuch einer Mischung von 5%igem Phenol mit Kongorot zeigte eine gleich gute Wirkung wie das Carbolfuchsin, das heißt, es trat schon nach einer Minute Einwirkungszeit keinerlei Wachstum mehr auf.

Fassen wir nun das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchungen zusammen, so kommen wir zu folgendem:

Das Kongorot ist als Desinfiziens ungeeignet. Es hat zwar eine schwach hemmende, jedoch keinerlei abtötende Kraft, dafür aber andere Eigenschaften, die es für gewisse Aufgaben geeignet machen.

Das Kristallviolett zeigt schon eine entwicklungshemmende Wirkung bei einer Verdünnung von 1:5000000 auf Staphylokokken, auf Colibakterien bei einer Konzentration von 1:50000. Abtötend wirkt es auf Staphylokokken und Streptokokken nach 1 Minute, auf die gramnegativen Colibakterien nach 5 Minuten. Es hat also auch die für die Anilinfarbstoffe typische elektive Wirkung auf die grampositiven Keime.

In noch stärkerem Maße ist dies beim Fuchsin der Fall. Durch die Komposition mit 5%iger Karbolsäure, dem Karbolfuchsin, ist diese Elektivität ausgeschaltet und gleichzeitig die Desinfektionswirkung überhaupt sehr stark gehoben worden.

Das Azohel tötet Streptokokken schon nach einer Einwirkungszeit von 1 Minute ab, die Staphylokokken und Colibakterien erst nach 2,5 Minuten. Wir besitzen also auch in ihm ein sehr gut wirkendes Desinfektionsmittel.

Zu den Versuchen wurden als Testkeime die Staphylokokken, Streptokokken und Colibakterien verwandt, da die typischen Mundbakterien teils nicht züchtbar, zu mindest jedoch zu Desinfektionsversuchen nicht verwendbar sind. Es wurden grampositive und gramnegative Keime verwandt, da diese häufig von einander verschiedene Eigenschaften haben. Natürlich brauchen die Versuchsbefunde nicht immer parallel zu laufen mit den klinischen Befunden, da die sonstigen Keime der Mundhöhle sehr viel empfindlicher sein könnten, als die untersuchten, also doch noch irgend eine Einwirkung des Kongorots oder des Fuchsins möglich ist. Da aber andererseits bei allen Entzündungen der Mundhöhle Staphylokokken und Streptokokken vorhanden sind und eine große Rolle dabei spielen, so muß ein klinisch brauchbares Desinfiziens auch auf diese Bakterien eine bakterizide Wirkung ausüben.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurden vier Anilinfarbstoffe, die in der zahnärztlichen Universitätsklinik zu Heidelberg verwandt werden, auf ihre bakteriziden Eigenschaften untersucht.

Das Kristallviolett ergab eine besonders stark abtötende Wirkung in 3%iger Lösung gegenüber den grampositiven Keimen, während die gramnegativen Colibakterien erst nach 5 Minuten abgetötet wurden.

Das Kongorot, das hauptsächlich als Haemostyptikum Verwendung findet, zeigte als 1%ige Lösung nur eine sehr schwach hemmende, jedoch keinerlei abtötende Kraft. Wegen der schlechten Löslichkeit des Kongorots ist eine stärkere Konzentration als 1%ig nicht möglich.

Die guten desinfizierenden Eigenschaften des Karbolfuchsins, in dem das Fuchsin 1%ig enthalten ist, beruhen fast ausschließlich auf der Wirkung des 5%igen Phenols, was aus den wenig befriedigenden Resultaten der Prüfung des 1%igen Fuchsins sich ergab.

Eine sehr gute bakterizide Wirkung besitzt das 4%ige Azohel. Es tötete sowohl die Staphylokokken als auch die Colibakterien schon nach 2,5 Minuten ab, während bei den Streptokokken schon nach 1 Minute kein Wachstum mehr feststellbar war.

Wir besitzen also im Kristallviolett und im Azohel zwei ausgezeichnete Farbstoffdesinfizientien, die besonders in der zahnärztlichen Chirurgie von großer Bedeutung sind.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Schmidhuber für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. Habs für seine Anleitung und Ratschläge zu danken.

Literaturangabe.

Beckh, Dissertation, Erlangen, 1889.
Stilling, Berl. Klin. Wschr., 1890, p. 531.
S. G. Kriegler, Zbl. für Bakt. Orig. Bd. 59 p. 481.
Amster, Zbl. für Bakt. Ref. Bd. 74.
Eisenberg, Zbl. für Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 71, p. 420.
Churchman, Journal of Exper. Med. Bd. 37.
Oesterlin, Zbl. für Bakt. Abtlg. I, Orig. Bd. 94, p. 313.
Sartorius, Zbl. für Bakt., Abtlg. I, Orig. Bd. 107 und 108.
Lockemann, Dtsch. Med. Wschr. 1934 Nr. 11, p. 395.
Gebb. München, Med. Wschr. 1913, Nr. 18.
Ruhrah, Merks Jahrbücher, Ref. 1915, p. 208.
Leitch, Merks Jahrbücher, Ref. 1916, p. 207.
Castellani, Merks Jahrbücher, Ref. 1928, p. 52.
Becker, Münch. Med. Wschr. 1930 Nr. 10, p. 396.
Szirmai, Münch. Med. Wschr. 1935.
Widels, Ref. Misch 1927 Bd. II, p. 830.
Weissenfels, Korrespondenzblatt für Zahnheilkunde 1927, Nr. 3.
Moore, Ref. Misch 1928 Bd. II, p. 830.
Seifert, Österr. Ztschr. für Stomat. 1910, p. 280.
Jensen, Zbl. für Bakt., Orig. Bd. 130.

Lebenslauf.

Ich wurde am 26. Dezember 1909 geboren als Sohn des Forstassessors Hermann Dorner und seiner Ehefrau Alice, geb. Eitel. Im Jahre 1916 kam ich in die Volksschule in Karlsruhe, besuchte dann die Realschule Meßkirch und Oberrealschule Konstanz, wo ich 1929 die Reifeprüfung bestand.

Ich studierte dann in Freiburg, Würzburg und Kiel. Mein Physikum machte ich zu Ende des Sommersemesters 1932 in Freiburg, mein Staatsexamen 1934 in Kiel. Seit 15. Mai 1934 bin ich approbiert und bis jetzt als Assistent tätig gewesen.